呕吐毒素对 IPEC-J2 细胞凋亡的影响

廖美芳[1，2] 孟英才[1] 詹济华[1] 印遇龙[2] 廖 鹏[2*] 李 玲[1*]

（1．湖南中医药大学药学院，长沙 410208；2. 中国科学院亚热带农业生态研究所，亚热带农业生态过程重点实验室，长沙 410125）

摘 要：本研究以 IPEC-J2 细胞为材料，研究不同浓度和时间处理下呕吐毒素（DON）对猪空肠上皮细胞凋亡的影响。通过 CCK-8 试剂盒检测细胞增殖毒性，筛选出合适的 DON 作用时间（6、12、24 h）。通过低浓度（200 ng/mL）和高浓度（2 000 ng/mL）DON 分别作用 IPEC-J2 细胞 6、12、24 h，检测 DON 对细胞有丝分裂周期和细胞早期凋亡的影响。结果表明：1）DON 对 IPEC-J2 细胞生长有明显抑制作用，200 和 2 000 ng/mL DON 浓度下，48 和 72 h 的细胞存活率显著低于 24 h($P<0.05$)；2 000 ng/mL DON 浓度下，72 h 的细胞存活率显著低于 48 h($P<0.05$)。2）不同 DON 浓度对细胞周期影响不同，低浓度 DON 主要作用于细胞有丝分裂 S 期，干扰 DNA 的复制；而高浓度 DON 主要作用于细胞有丝分裂 G2/M 期，干扰有关酶与纺锤丝蛋白质的合成。3）DON 作用 6 h，低浓度 DON 组和高浓度 DON 组早期凋亡率和总凋亡率显著高于对照组($P<0.05$)；DON 作用 12 h，高浓度 DON 组早期凋亡率和总凋亡率显著高于对照组和低浓度 DON 组($P<0.05$)。由此可见，DON 抑制了 IPEC-J2 细胞增殖，低浓度 DON 使细胞有丝分裂停留在 S 期，高浓度 DON 使细胞有丝分裂停留在 G2/M 期。DON 促使细胞早期凋亡，使总凋亡率上升，且促凋亡作用随 DON 浓度升高而增强。

关键词：呕吐毒素；IPEC-J2 细胞；周期；凋亡；增殖

中图分类号：S811.2

脱氧雪腐镰刀菌烯醇（deoxynivalenol，DON），属于单端孢霉烯族类化合物，主要由禾谷镰刀菌、尖孢镰刀菌、雪腐镰刀菌等镰刀菌产生。另外，头孢菌属、木霉属等都可产生该毒素。由于它可以引起猪的呕吐，故又名呕吐毒素[1-2]。该毒素最初是 1970 年在日本香川县的霉病大麦病毒中发现，1972 年，日本的学者首次从赤霉病大麦中分离得到并阐明了这种新的真菌毒素的化学结构，将其命名为 DON[3]。当人食用了被 DON 污染的食物后，会导致厌食、呕吐、发烧、腹泻、站立不稳、反应迟钝等急性中毒症状，严重时影响造血系统甚至死亡[4]。中国传统饮食习惯中粮谷比例远远高于西方，使得 DON 的危害更为突出。1998 年，

收稿日期：2017-09-01

基金项目：国家自然科学基金青年基金（31402088）

作者简介：廖美芳（1989—），女，湖南怀化人，硕士研究生，从事猪肠道细胞分子生物研究。E-mail: 499136399@qq.com

*通信作者：廖 鹏，副研究员，硕士生导师，E-mail: liaopeng@isa.ac.cn；李 玲，副教授，硕士生导师，E-mail: 444954437@qq.com

在国际癌症研究机构公布的评价报告中，DON 被列为 3 类致癌物。欧盟要求饲料中 DON 浓度要小于 0.75 mg/kg，中国饲料 DON 浓度限量值为 1 mg/kg[5-6]。

猪摄入 DON 以后，对脑神经产生麻痹作用。而且，即使是低浓度的 DON 也能引起猪脑中 5-羟吲哚乙酸含量的提高[7]。不同浓度 DON 对大鼠红细胞的溶血作用不同，其溶血作用有一个阈值，低于此浓度则红细胞不会发生溶血反应[8]。DON 可能通过 3 种不同的方式对原核细胞产生毒性作用：1）通过渗透磷脂双层，作用于亚细胞水平；2）通过与细胞膜相互作用；3）通过自由基介导的脂质过氧化作用。DON 可能以 1 种或 1 种以上的方式同时发挥毒性作用[7]。研究发现，DON 可作用于骨髓造血细胞而产生细胞毒性。其免疫毒性作用依赖于 DON 的浓度、淋巴细胞亚型、组织来源和糖皮质激素[9]。另外，DON 可以抑制胸腺细胞的蛋白质合成。多数研究都表明 DON 具有胚胎毒性和致畸作用。动物试验表明，长期小剂量饲喂饲含 DON 的饲料，可以诱发不同器官的肿瘤[10]。经小鼠口服给药 5 和 25 mg/kg DON，结果显示细胞炎症因子白细胞介素-6（*IL*-6）、白细胞介素-1β（*IL*-1*β*）和肿瘤坏死因子-α（*TNF*-*α*）的 mRNA 的表达量升高，高浓度 DON 可抑制体外培养的人外周淋巴细胞的增殖及免疫球蛋白的产生，并且该抑制作用有剂量依赖性；而低浓度则使免疫球蛋白含量升高[11-12]。

由于猪肠上皮细胞在免疫系统中起重要作用，通过不同的机制参与肠的先天免疫反应，例如屏障功能、抗菌肽合成、黏液分泌和参与细胞因子趋化。而目前关于肠细胞功能的大多数知识来自人类癌症或从经典动物模型产生的细胞培养物进行的研究。但是，物种在响应特异性环境时选择不同的细胞因子，所以在猪活体上需要谨慎的运用基于小鼠和人的免疫功能模型[13]。因此，基于分子水平的基础研究至关重要。

本文选取猪空肠上皮细胞系 IPEC-J2 细胞，通过 Cell Counting Kit-8(CCK-8 试剂盒)检测 DON 对细胞的增殖毒性，筛选合适的 DON 浓度和作用时间，进而检测 DON 对细胞周期和凋亡的影响。通过这些指标来观测 DON 对 IPEC-J2 细胞凋亡的影响。

1　材料与方法

1.1　试验材料

DON（Sigma-Aldrich 公司，美国），青霉素、链霉素(碧云天生物技术研究所)，胎牛血清(FBS)、高糖培养基(DMEM)、25％胰蛋白酶-乙二胺四乙酸（Trypsin-EDTA）、苯酚红（phenol red）、胰蛋白酶（Gibco 公司，美国），磷酸盐缓冲液（phosphate buffered saline，PBS）（HyClone 公司，美国），CCK-8 试剂盒（同仁化学研究所，日本），Annexin V-FITC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒（江苏凯基生物技术股份有限公司），碘化丙啶（propidium iodide，PI）（Sigma 公司，美国）。

1.2　试验仪器

Memmert-CO_2培养箱、Leica 倒置荧光显微镜、Eppendort 离心机（德国），SW-CJ-IF 型单人双面净化工作台（苏州净化设备有限公司），多功能酶标仪（瑞士）。

1.3 细胞来源

IPEC-J2 细胞由中国科学院亚热带农业生态研究所单胃动物研究组提供。

1.4 试验方法

1.4.1 DON 配制

将原装 DON 粉末溶解在二甲基亚砜(DMSO)中，配成 1 mg/mL 母液，用 0.22 μm 滤膜过滤。再分别用含有 10% FBS 和 1%青-链霉素的完全培养基配成浓度分别为 200 和 2 000 ng/mL 的 DON 溶液，整个过程在超净台完成。

1.4.2 细胞培养

IPEC-J2 细胞培养液为含体积分数 10% FBS 及 1%双抗的 DMEM 培养基，接种量为每毫升 3.0×10^6 个细胞。细胞接种于 10 cm 细胞培养皿，再转移至温度为 37 ℃、体积分数为 5%的 CO_2 细胞培养箱内培养。

1.4.3 CCK-8 试剂盒试验接种和 DON 处理

取对数生长期的 IPEC-J2 细胞，用 2.5 g/L 胰蛋白酶消化，接种于 3 块 96 孔板，分别标明 24、48、72 h，每孔约 1×10^4 个细胞，每板 A、B、C、D 4 个组，每个组 2 列 10 个重复，待细胞生长到合适密度，更换加药物处理的培养液，具体分组见表 1。第 1 列为清零组，加 100 μL 培养液，其他列加入不同药物处理的等量 100 μL 培养液。

表 1 组别与 DON 浓度

Table 1 Groups and DON concentration

组别 Groups	DON 浓度 DON concentration
A 组（清零组） Group A (zeroing group)	不含细胞的培养液
B 组（对照组） Group B (control group)	不含 DON 的培养液
C 组 Group C	200 ng/mL
D 组 Group D	2 000 ng/mL

待加入 DON 24、48、72 h 后，更换含有 10% CCK-8 试剂盒的培养液，放培养箱孵育 2 h，之后用酶标仪检测吸光度（OD）值，检测波长为 450 nm。

细胞存活率计算公式（与对照组比较）：

细胞存活率（%）=$[(OD_{测量组}-OD_{清零组})/(OD_{对照组}-OD_{清零组})]\times100$。

1.5 DON 对 IPCE-J2 细胞周期影响

1.5.1 细胞培养和 DON 处理

IPEC-J2 细胞接种于 10 cm 细胞培养皿，置于温度为 37 ℃、体积分数 5%的 CO_2 细胞培

养箱内培养。待 6、12、24 h 各组细胞长到合适浓度，更换含有 0、200、2 000 ng/mL DON 的培养液。

1.5.2　细胞收集和检测

配制 70%乙醇，放置在-20 ℃冰箱预冷备用，准备一盒冰备用，2.5 g/L 胰蛋白酶消化细胞，收集在 15 mL 离心管中，1 000 r/min、20 ℃离心 5 min，收集细胞，去上清培养基；15 mL 离心管中加入 3~5 mL PBS，枪头轻轻吹打混匀细胞，1 000 r/min、20 ℃离心 5 min，去上清，留 200 μL 左右的 PBS 上清液，枪头轻轻吹打混匀。吸取 800 μL 预冷的 70%乙醇到 1.5 mL 离心管中，将 200 μL 混匀的细胞悬液一滴滴地加入至 70%酒精中固定，细胞周期样品可在-20 ℃冰箱中保存 3~4 d。

取出固定的样品，800 r/min 离心 5 min，弃上清。加入 1 mL 预冷 PBS 重悬细胞，800 r/min 离心 5 min，收细胞。可重复 1~2 次，以除去乙醇。加入 150 μL PI 工作液，4 ℃避光染色 30 min。转至流式检测管，上机检测，PI 用 488 nm 氩离子激光器激发，由 630 带通滤光片接收，通过 FSC/SSC 散点图收集 10 000 个细胞，采用设门技术排除粘连细胞和碎片，分析 PI 荧光直方图上细胞各周期的百分率。

1.6　不同浓度 DON 处理后细胞凋亡检测

1.6.1　细胞培养和 DON 处理

同 1.5.1。

1.6.2　细胞收集和检测

待不同浓度 DON 处理 6、12、24 h 后，去掉培养液，用适量 PBS 洗涤细胞 1 遍，2.5 g/L 胰蛋白酶消化细胞，1 000 r/min、20 ℃离心 5 min，收集于 15 mL 离心管，用 PBS 洗涤细胞 2 次，每次 2 000 r/min、20 ℃离心 5 min，收集 1×10^5~5×10^5 个细胞，加入 500 μL 的结合缓冲液（binding buffer）悬浮细胞加入 5 μL 细胞凋亡检测试剂（Annexin V-FITC）混匀后，加入 5 μL PI，混匀。室温、避光，反应 5~15 min，1 h 内在流式细胞仪观察检测。

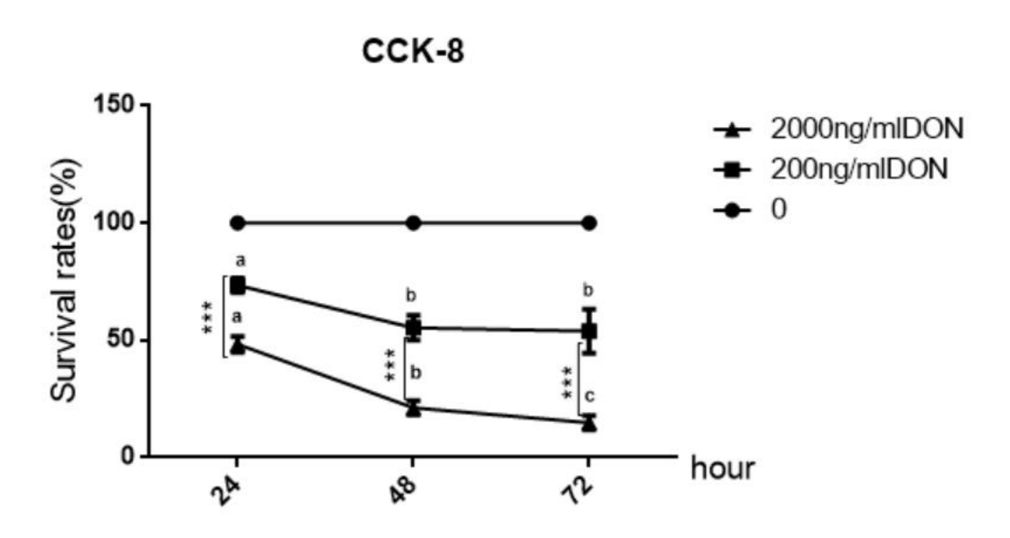
1.7　数据统计分析

所有数据用使用 SPSS 22.0 一般线性模型进行单变量分析，因变量为生存率，固定因子为浓度和时间。P<0.05 为差异显著，P<0.01 为差异极显著。

2　结果与分析

2.1　不同浓度 DON 和时间对 IPEC-J2 细胞存活率的影响

不同浓度 DON 和时间对 IPEC-J2 细胞存活率影响的结果如图 1。在同一时间与对照组相比，200 和 2 000 ng/mL DON 组细胞存活率均极显著降低(P<0.01)，且 2 000 ng/mL DON 组细胞存活率极显著低于 200 ng/mL DON 组(P<0.01)。不同时间的细胞存活率相比，相同 DON 浓度随着时间的增加呈现剂量依赖性增加的规律；200 和 2 000 ng/mL DON 浓度下，48 和 72 h 的细胞存活率显著低于 24 h(P<0.05)；200 ng/mL DON 浓度下，48 h 和 72 h 相比无显著差异（P>0.05）。



不同时间下，标注不同小写字母表示差异显著（*P*<0.05），相同字母表示差异不显著（*P*>0.05）；不同 DON 浓度下，标注***表示差异极显著（*P*<0.01）。

At different times, with different small letters mean significant difference (*P*<0.05), while with the same small letters mean no significant difference (*P*>0.05). *** mean significant difference in different DON concentrations (*P*<0.01).

图 1　不同浓度 DON 和时间对 IPEC-J2 细胞存活率的影响

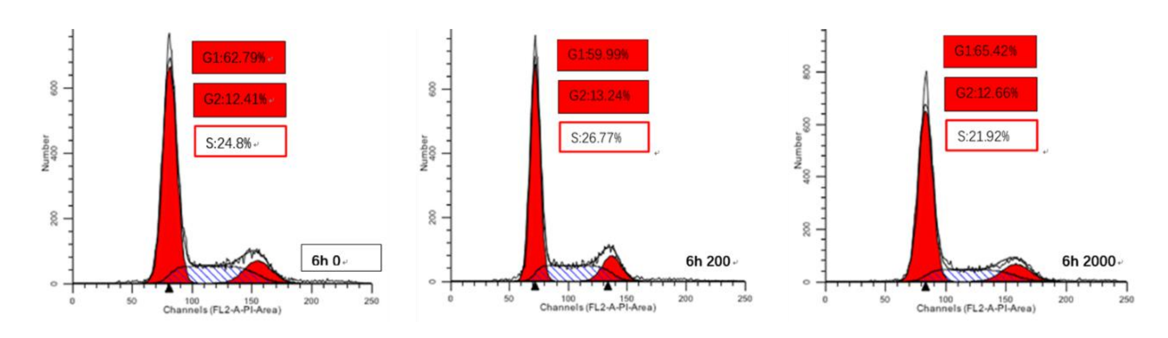
Fig.1　Effects of different DON concentration and time on survival rate of IPEC-J2 cells

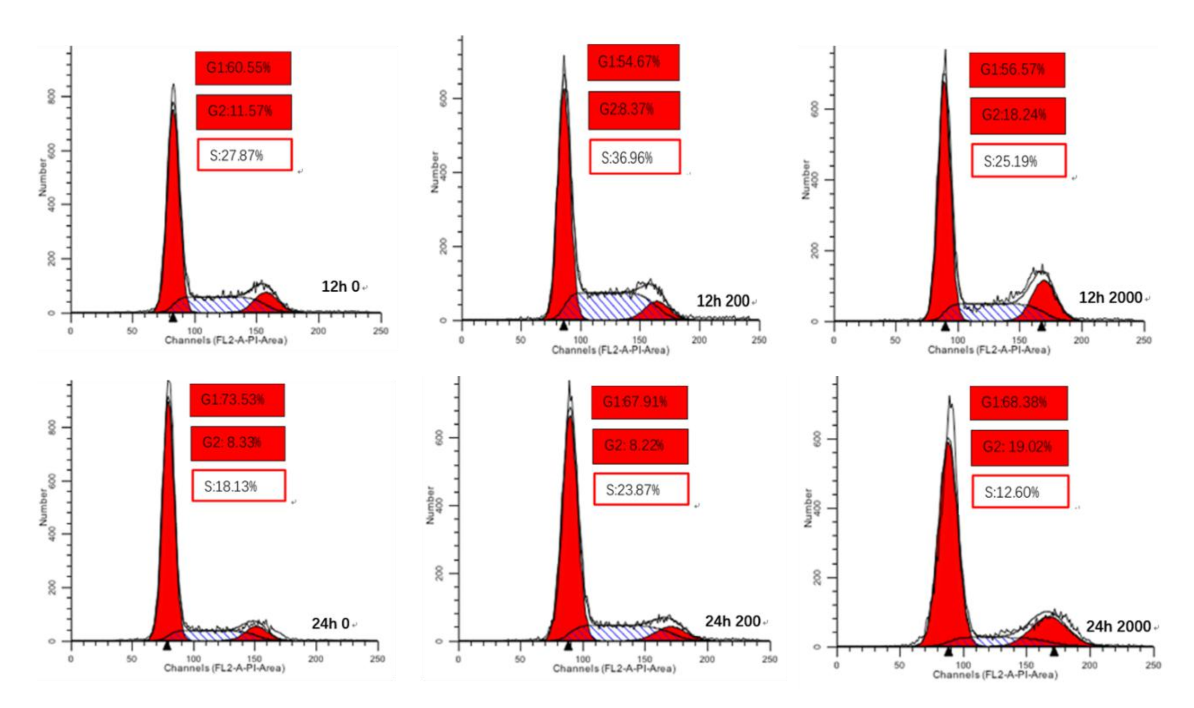
.

2.2　DON 对 IPCE-J2 细胞周期的影响

2.2.1　周期图谱

不同浓度 DON 和时间下 IPEC-J2 细胞生长周期状态见图 2，不同浓度 DON 和时间对 IPCE-J2 细胞周期的影响见图 3。不同 DON 浓度对细胞周期影响不同，低浓度 DON 主要作用于细胞有丝分裂 S 期，干扰 DNA 的复制；而高浓度 DON 主要作用于细胞有丝分裂 G2/M 期，干扰有关酶与纺锤丝蛋白质的合成。



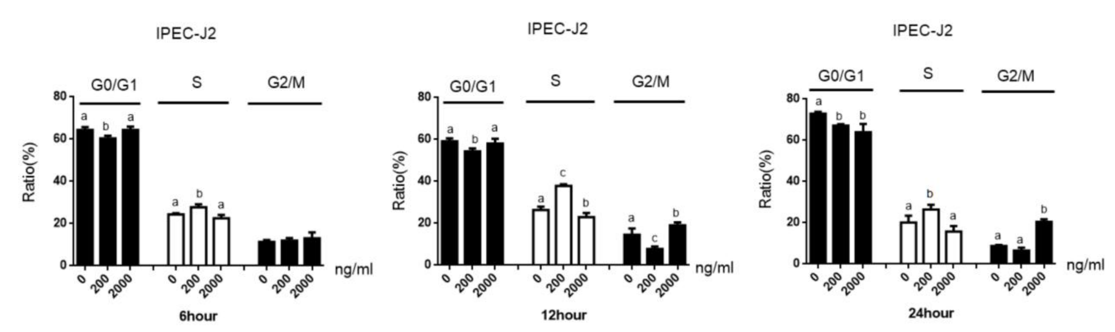


G0、G1 表示细胞有丝分裂前期，S 表示细胞有丝分裂中期，G2、M 表示细胞有丝分裂后期。图 3 同。

G0 and G1 indicates cell mitosis prophase, S indicates cell mitosis metaphase, and G2 and M indicates cell mitosis anaphase. The same as Fig.3.

图 2　不同浓度 DON 和时间下 IPEC-J2 细胞周期直方图

Fig. 2　IPEC-J2 cell cycle histograms under different DON concentrations and time



数据柱标相同小写字母表示差异不显著($P>0.05$)，不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Value columns with the same small mean no significant difference ($P>0.05$), while with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$).

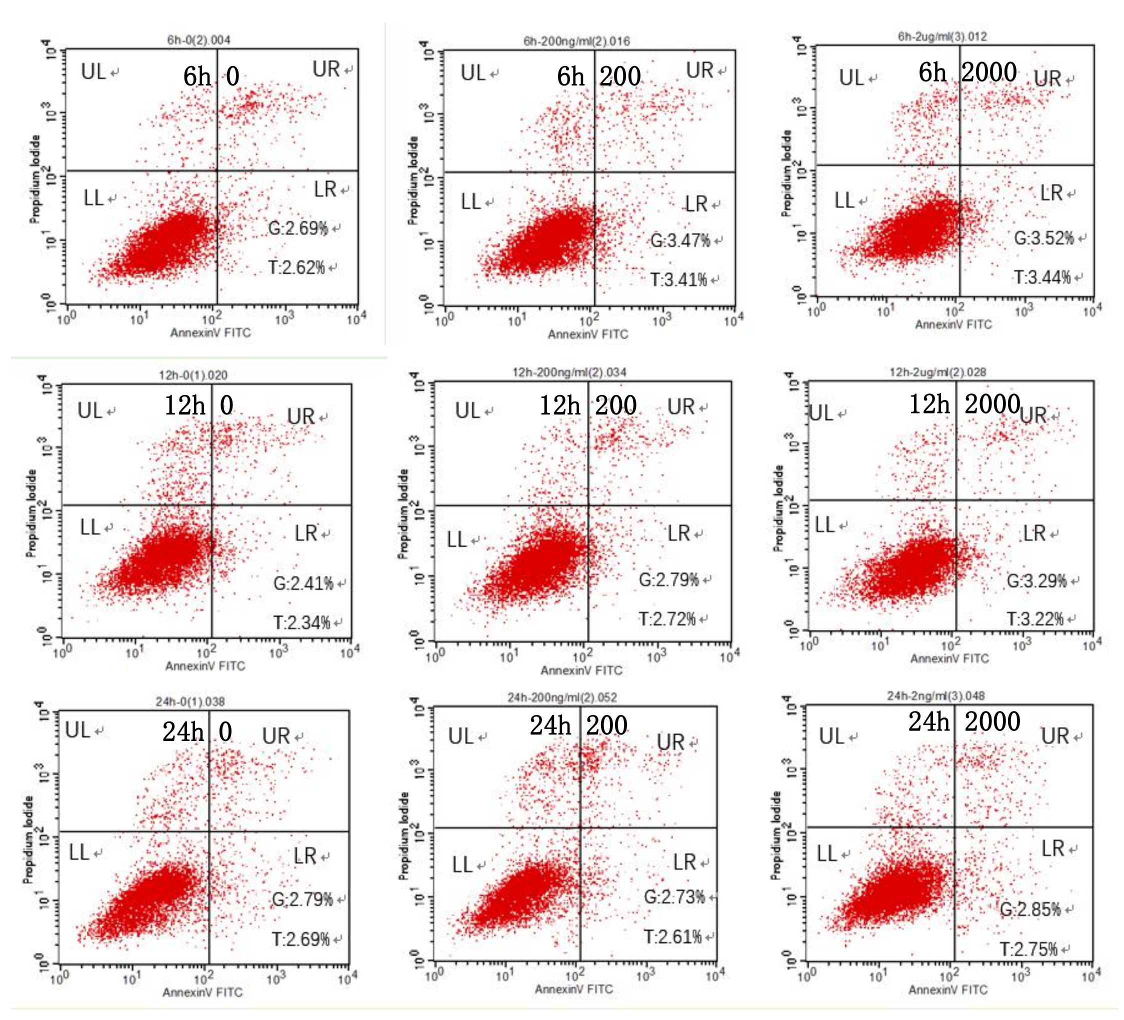
图 3　不同浓度 DON 和时间对 IPCE-J2 细胞周期的影响

Fig.3　Effects of different DON concentration and time on cell cycle of IPEC-J2 cells

2.3　DON 对细胞凋亡的影响

DON 对细胞凋亡的影响见图 4 及表 2、表 3。其中在 6 h，早期凋亡率和总凋亡率都随着 DON 浓度升高而升高，200 和 2 000 ng/mL DON 组显著高于对照组($P<0.05$)；在 12 h，2 000 ng/mL DON 组早期凋亡率和总凋亡率显著高于对照组和 200 ng/mL DON 组($P<0.05$)；在 24 h，各组间早期凋亡率和总凋亡率无显著差异（$P<0.05$）。200 ng/mL DON 浓度下，12 和 24 h 早期凋亡率和总凋亡率显著低于 6 h ($P<0.05$)；2 000 ng/mL DON 浓度下，24 h 早期凋亡率

和总凋亡率显著低于 6 和 12 h (P<0.05)。



UL 区为细胞坏死（上左），LL 区为细胞存活（下左），UR 区为晚期凋亡细胞(上右)，LR 为早期凋亡细胞（下右），G 为早期凋亡率，T%为总凋亡率。

UL region was merornecrosis (top left), LL region was cell survival (lower left), UR region was non-viable apoptotic cell (top right), LR region was viable apoptotic cell (lower right), G was early apoptosis rate, T was total apoptosis rate.

图 4　不同浓度 DON 和时间下 IPEC-J2 细胞凋亡散点图

Fig.4　IPEC-J2 cell apoptosis scatter plot under different DON concentrations and time

表 2　不同浓度 DON 和时间对 IPCE-J2 细胞早期凋亡率和总凋亡率的影响

Table 2　Effects of different DON concentration and time on early apoptosis rate and total apoptosis rate of IPEC-J2 cells　　%

时间 Time/h	DON 浓度 DON concentration/(ng/mL)	早期凋亡率 Early apoptosis rate	总凋亡率 Total apoptosis rate
	0	2.56±0.13[a]	2.52±0.10[a]
6	200	3.14±0.37[b]	3.09±0.37[b]
	2 000	3.39±0.49[b]	3.33±0.49[b]

	0	2.66±0.22a	2.56±0.22a
12	200	2.66±0.23a	2.60±0.21a
	2 000	3.23±0.10b	3.18±0.12b
	0	2.80±0.08	0.26±0.13
24	200	2.38±0.31	2.29±0.28
	2 000	2.70±0.33	2.60±0.34

同列数据肩标不同小写字母表示差异显著（P<0.05），相同或无字母表示差异不显著（P>0.05）。下表同。

In the same column, values with different small letter superscripts mean significant difference (P<0.05), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference (P>0.05). The same as below.

表 3　不同浓度 DON 和时间对 IPCE-J2 细胞早期凋亡率和总凋亡率的影响

Table 3　Effects of different DON concentration and time on early apoptosis rate and total apoptosis rate of IPEC-J2 cells　　%

DON 浓度 DON concentration/(ng/mL)	时间 Time/h	早期凋亡率 Early apoptosis rate	总凋亡率 Total apoptosis rate
	6	2.56±0.13	2.52±0.10
0	12	2.65±0.22	2.56±0.21
	24	2.80±0.08	2.67±0.12
	6	3.14±0.37a	3.09±0.37a
200	12	2.66±0.22b	2.60±0.20b
	24	2.38±0.31b	2.29±0.28b
	6	3.39±0.49a	3.33±0.48a
2 000	12	3.23±0.11a	3.17±0.12a
	24	2.69±0.32b	2.60±0.33b

3　讨　论

研究表明，DON 对原核细胞、真核细胞均具有明显的毒性作用，特别是对于生长较快的细胞如胃肠道黏膜细胞、淋巴细胞、胸腺细胞、脾细胞、骨髓造血细胞等均有损伤作用，并且抑制蛋白质合成。Alm 等[14]、Tiemann 等[15]研究表明，DON 能影响细胞周期的分布，抑制细胞进入 S 期，使细胞阻滞在 G_0、G_1 期，具有显著的抗增殖作用。本试验结果表明，DON 具有明显的抑制细胞生长的作用，在 24 h 内作用显著，超过 48 h 后低浓度（200 ng/mL）DON 作用趋势平稳，高浓度（2 000 ng/mL）DON 持续抑制；IPEC-J2 细胞存活率随着 DON 浓度增高而极显著下降。低浓度 DON 主要作用于细胞有丝分裂 S 期，干扰 DNA 的复制；高浓度 DON 主要作用于细胞有丝分裂 G2/M 期，干扰有关酶与纺锤丝蛋白质的合成。此结果与前人报道[16]相似。

细胞凋亡指为维持内环境稳定，由基因控制的细胞自主的有序的死亡。凋亡分为 3 个步骤：凋亡起始、凋亡小体形成、凋亡小体被邻近的细胞或体内吞噬细胞所吞噬；机理为接受凋亡信号→凋亡调控分子间的相互作用→蛋白水解酶的活化→进入连续反应过程。凋亡细胞的残余物质被消化后重新利用。本试验的凋亡试验结果显示，IPEC-J2 细胞在 DON 作用 6 h 后，200 和 2 000 ng/mL DON 组的早期凋亡率和总凋亡率显著升高；12 h 后，2 000 ng/mL DON 组的早期凋亡率和总凋亡率显著升高；24 h 后作用不再显著。相同浓度 DON 处理不同时间，低浓度 DON 作用 12 和 42 h 后早期凋亡率和总凋亡率显著降低；高浓度 DON 作用 24 h 后早期凋亡率和总凋亡率显著降低。与低浓度不同的是，高浓度 DON 促进凋亡作用持续到 12 h，这与启动了不同的凋亡机制有关[17]。

4　结　论

① DON 对 IPEC-J2 细胞生长有明显抑制作用，其抑制作用效果随着 DON 浓度增高而增强，其中抑制细胞增殖主要作用在 24 h。

② 不同 DON 浓度对细胞周期影响不同，低浓度 DON 主要作用于细胞有丝分裂 S 期，干扰 DNA 的复制；高浓度 DON 主要作用于细胞有丝分裂 G2/M 期，干扰有关酶与纺锤丝蛋白质的合成。

③ DON 促使细胞早期凋亡，使总凋亡率上升，且促凋亡作用随 DON 浓度升高而增强。

参考文献：

[1] PESTKA J J.Deoxynivalenol-induced proinflammatory gene expression:mechanisms and pathological sequelae[J].Toxins,2010,2(6):1300–1317.

[2] PESTKA J J,SMOLINSKI A T.Deoxynivalenol:toxicology and potential effects on humans[J].Journal of Toxicology and Environmental Health,Part B,2005,8(1):39–69.

[3] YOSHIZAWA T,TAKEDA H,OHI T.Structure of a novel metabolite from deoxynivalenol,a tricho-thecene mycotoxin,in animals[J].Agricultural and Biological Chemistry,1983,47(9):2133–2135.

[4] COPPICK R W,SWANSON S P,GELBERG H B,et al.Preliminary study of the pharmacokinetics and toxicopathy of deoxynivalenol (vomitoxin) in swine[J].American Journal of Veterinary Research,1985,46(1):169–174.

[5] PESTKA J J.Deoxynivalenol:mechanisms of action,human exposure,and toxicological relevance[J].Archives of Toxicology,2010,84(9):663–679.

[6] ZHANG H,VAN DER LEE T,WAALWIJK C,et al.Population analysis of the *Fusarium graminearum* species complex from wheat in China show a shift to more aggressive isolates[J].PLoS One,2012,7(2):e31722.

[7]PRELUSKY D B,VEIRA D M,TRENHOLM H L,et al.Excretion profiles of the mycotoxin deoxynivalenol,following oral and intravenous administration to sheep[J].Fundamental and Applied Toxicology,1986,6(2):356–363.

[8]RIZZO A F,ATROSHI F,AHOTUPA M,et al.Protective Effect of Antioxidants against Free Radical-Mediated Lipid Peroxidation Induced by DON or T-2 Toxin[J].Transboundary and Emerging Diseases,1994,41(1/2/3/4/5/6/7/8/9/10):81–90.

[9]LAUTRAITE S,PARENT-MASSIN D,RIO B,et al.In vitro toxicity induced by deoxynivalenol (DON) on human and rat granulomonocytic progenitors[J].Cell Biology and Toxicology,1997,13(3):175–183.

[10]CHUNG Y J,ZHOU H R,PESTKA J J.Transcriptional and posttranscriptional roles for p38 mitogen-activated protein kinase in upregulation of TNF-α expression by deoxynivalenol (vomitoxin)[J].Toxicology and Applied Pharmacology,2003,193(2):188–201.

[11]甄阳光, 柏凡, 张克英, 等. 我国主要饲料原料及产品中呕吐毒素污染分布规律研究[J]. 中国畜牧杂志, 2009, 45(8):21–24, 28.

[12]VARGE E,MALACHOVA A,SCHWARTZ H,et al.Survey of deoxynivalenol and its conjugates deoxynivalenol-3-glucoside and 3-acetyl-deoxynivalenol in 374 beer samples[J].Food Additives & Contaminants:Part A,2013,30(1):137–146.

[13] MARIANI V,PALERMO S,FIORENTINI S,et al.Gene expression study of two widely used pig intestinal epithelial cell lines:IPEC-J2 and IPEC-1[J].Veterinary Immunology and Immunopathology,2009,131(3/4):278–284.

[14] ALM H,GREISING T,BRÜSSOW K P,et al.The influence of the mycotoxins deoxynivalenol and zearalenol on in vitro maturation of pig oocytes and in vitro culture of pig zygotes[J].Toxicology in Vitro,2002,16(6):643–648.

[15]TIEMANN U,VIERGUTZ T,JONAS L,et al.Influence of the mycotoxins α- and β-zearalenol and deoxynivalenol on the cell cycle of cultured porcine endometrial cells[J].Reproductive Toxicology,2003,17(2):209–218.

[16] DIESING A K,NOSSOL C,DANICKE S,et al.Vulnerability of polarised intestinal porcine epithelial cells to mycotoxin deoxynivalenol depends on the route of application[J].PLoS One,2011,6(2):e17472.

[17] DIESING A K,NOSSOL C,PANTHER P,et al.Mycotoxin deoxynivalenol (DON) mediates biphasic cellular response in intestinal porcine epithelial cell lines IPEC-1 and IPEC-J2[J].Toxicology Letters,2011,200(1/2):8–18.

Effects of Deoxynivalenol on Apoptosis of IPEC-J2 Cells

LIAO Meifang[1,2] MENG Yinchai[1] ZHAN Jihua[1] YIN Yulong[1] LIAO Peng[2*] LI Ling[1*]

(1. *School of Pharmacy, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha* 410208*, China; 2. Key Laboratory for Agro-Ecological Processes in Subtropical*

Region, Institute of Subtropical Agriculture, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125*, China*)

Abstract: This experiment was conducted to determine the effect of deoxynivalenol (DON) on the apoptosis of IPEC-J2 cells after different concentrations and time treatment. An appropriate exposure time (6, 12, and 24 hour) used CCK-8 assay to test for cell proliferation. The effects of DON on cell mitosis cycle and early cell apoptosis were examined by treated the IPEC-J2 cells with low concentration (200 ng/mL) and high concentrations (2 000 ng/mL) DON for 6, 12, 24 hours. The results showed as follows: 1) DON significantly inhibited the growth of IPEC-J2 cells. At 200 and 2 000 ng/mL DON concentrations, the cell survival rate of 48 and 72 h was significantly lower than that of 24 h (P<0.05), and the cell survival rate of 72 h was significantly lower than that of 48 at 2 000 ng/mL DON concentration (P<0.05). 2) Different DON concentrations had different effects on cell cycle. The low concentration of DON mainly acted on mitosis stage S and interferes with the replication of DNA, but the high concentration of DON mainly acted on the mitotic phase G2/M and interferes with the synthesis of enzymes and spindle filament proteins. 3) DON for 6 hours, the early apoptosis rate and total apoptosis rate of low concentration DON group and high concentration DON group were significantly higher than those of control group (P<0.05); DON for 12 hours, the early apoptosis rate and total apoptosis rate of high concentration DON group were significantly higher than those of control group and low concentration DON group (P<0.05). In conclusion, DON can inhibit IPEC-J2 cells proliferation, low concentration of DON can caused cell mitosis to stay in the S phase, high concentration of DON can caused cell mitosis to stay in the G2/M period. DON also can promote cell apoptosis and increase total apoptosis rate, and this effect is enhanced with DON concentration increasing.

Key words: DON; IPEC-J2 cells; cycle; apoptosis; proliferation

---

*Corresponding authors: LIAO Peng, associate professor, E-mail: liaopeng@isa.ac.cn; LI Ling, associate professor, E-mail: 444954437@qq.com (责任编辑　武海龙)